

[19]中华人民共和国专利局

[51]Int.Cl⁶

C07D

C07D493/04 A61K



[12] 发明专利申请公开说明书

[21] 申请号 96195001.3

[43]公开日 1998年7月29日

[11] 公开号 CN 11

[22]申请日 96.4.26

[30]优先权

[32]95.4.26 [33]JP[31]102626/95

[86]国际申请 PCT/JP96/01158 96.4.26

[87]国际公布 WO96/33989 日 96.10.31

[85]进入国家阶段日期 97.12.24

[71]申请人 协和发酵工业株式会社

地址 日本东京都

[72]发明人 我妻勉 斋藤裕 山下顺范

水上民夫 秋永士朗 五味克成

赤坂一人 高桥男美

[74]专利代理机构 中国专利代理(香港)有限公司

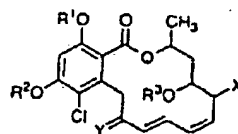
代理人 邝红 杨丽琴

权利要求书 2 页 说明书 37 页 附图页数 0 页

[54]发明名称 根赤壳菌素衍生物

[57]摘要

本发明涉及式(I)表示的根赤壳菌素衍生物或其可药用盐,其中R¹和R²相同或不同,各自表示氢、烷酰基、链烯酰基或叔丁基二甲基甲硅烷基;(1)当X表示卤素,Y表示氧原子或R⁴-O-N(其中R⁴表示氢原子或表示取代或未取代的低级烷基),和R³表示氢、烷酰基、链烯酰基等,和(2)当X与R³彼此结合表示单键时,Y表示R^{4b}-O-N(其中R^{4b}的定义同R⁴)。本发明的根赤壳菌素衍生物显示出酪氨酸激酶抑制活性和如抗肿瘤、抗菌或免疫抑制作用的药理活性。

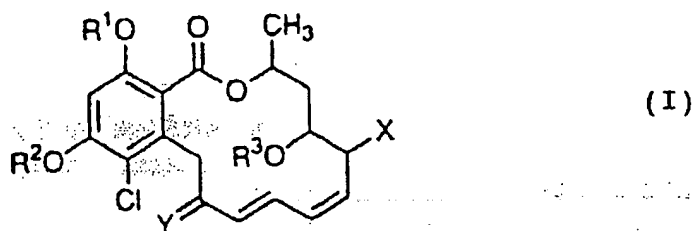


(I)

权 利 要 求 书

1. 下式(I)表示的根赤壳菌素衍生物或其可药用盐:

5



10

其中 R^1 和 R^2 相同或不同, 各自表示氢、烷酰基、链烯酰基或叔丁基二甲基甲硅烷基;

(1) 当 X 表示卤素时,

Y 表示氧原子或 R^4-O-N

{ 其中 R^4 表示氢原子或表示取代或未取代的低级烷基

15

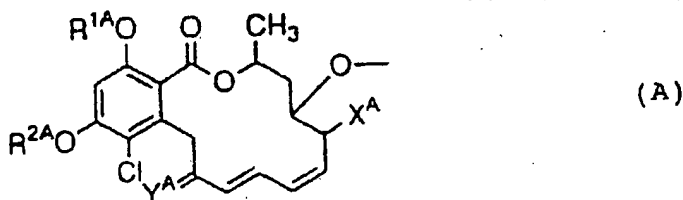
(所说的取代基选自羟基, 低级烷氧基, 低级烷酰氧基, 叠氨基, 氨基, 一-或二-低级烷基氨基, 低级烷酰基氨基, 低级烷氧羰基氨基, 低级链烯氧基羰基氨基, 羧基, 低级烷氧羰基, 低级烷基氨基甲酰基和环亚氨基);

R^3 表示氢, 烷酰基, 链烯酰基或 $-SO-Z$

20

(其中 Z 表示下式(A):

25



{ 其中 XA , $R1A$, $R2A$ 的定义分别同 X, $R1$ 和 $R2$; 和

YA 表示氧原子或 $R4A-O-N$

30

(其中 $R4A$ 的定义同 $R4$) |); 和

(2) 当 X 与 R^3 彼此结合表示单键时;

Y 表示 $R^{4B}-O-N$

(其中 R^{4B} 的定义同 R^4)。

2. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 X 表示卤素。

3. 根据权利要求 1 的化合物, 其中 Y 表示 R^4-O-N (其中 R^4 的定上所述)。

5 4. 由酪氨酸激酶引起的疾病的治疗剂, 该治疗剂含有至少一种要求 1-3 任意一项所述的化合物。

说明书

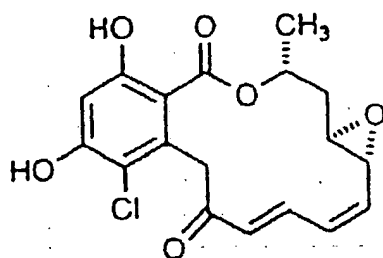
根赤壳菌素衍生物

技术领域

5 本发明涉及具有酪氨酸激酶抑制活性和具有抗肿瘤、抗微生物或免疫抑制作用的新的根赤壳菌素衍生物或其可药用盐。

背景技术

已知下式(B)表示的微生物代谢产物根赤壳菌素具有抗菌和抗癌作用[Nature, 171, 344(1953); Neoplasma, 24, 21(1977)]或具有免疫抑制作用(未审日本专利申请公开 No.298764/94)。



(B)

15

而且,其中酚羟基用各种酰基修饰的根赤壳菌素衍生物具有抗肿瘤作用是已知的(未审日本专利申请公开 No.226991/92)。此外,其中酚羟基用酰基或烷基修饰的根赤壳菌素衍生物具有血管生成抑制作用也已公开(未审日本专利申请公开 No.279279/94)。

20 酪氨酸激酶是采用 ATP 作为磷酸盐供体并催化底物蛋白质特定酪氨酸残基中的 γ -磷酸酯基转化为羟基的酶,因此在细胞内信号转导的控制机理中起重要的作用。已知多组酪氨酸激酶,并且酪氨酸激酶活性增加(例如结肠癌中的 Src、乳腺癌和胃癌中的 ErbB-2、白血病中的 Abb 等)也是已知的。酪氨酸激酶活性的无序增加可导致细胞的异常分化和增生。其结果是,酪氨酸激酶的特定抑制剂可用于防止或治疗多种疾病,包括作为抗肿瘤剂。

30 Lck 是一种酪氨酸激酶,通过抗原刺激激活 T 淋巴细胞可使其得到活化,并且该酶的抑制剂可以用作免疫抑制剂。而且, Src 与破骨细胞中的骨的再吸收有关也是已知的,该酶抑制剂也可作为骨重吸收的抑制剂用于治疗骨质疏松。此外,作为多种生长因子的受体类型的酪氨酸激酶 EGF-R(表皮生长因子受体)抑制剂, FGF-R(纤维细胞生长因子受体)抑制

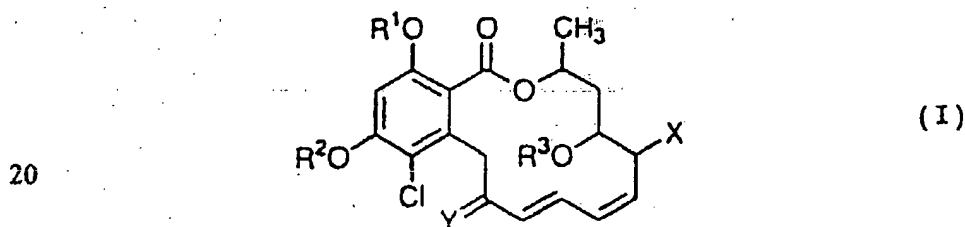
剂, PDGF-R (血小板衍生的生长因子受体) 抑制剂等, 可用作固体生长抑制剂, 血管生成抑制剂, 血管平滑肌生长抑制剂等等。

对酪氨酸激酶活性的抑制作用可采用以癌基因 v-Src (可从 RI 基因库获得) 转染的大鼠纤维细胞系 SR-3Y1, 用抗-磷酸酪氨酸抗
5 过 Western Blotting 分析进行测量, 并计算其中酪氨酸发生磷酸化胞内蛋白质的量。由于在该方法中采用的 SR-3Y1 细胞的细胞内蛋
酪氨酸磷酸化水平随 v-Src 酪氨酸激酶增加, 所以根赤壳菌素衍生
制 v-Src 酪氨酸激酶活性的能力可通过其中酪氨酸发生磷酸化的细
蛋白质的量的减少测定。Robinson, S.P. 等 [International Journ:
10 Oncology, 2, 253 (1993)] 报道了通过 Western Blotting 分析测定酪氨
酰化抑制作用的方法, 和 Kwon, H.J. 等 [Cancer Research, 52, 6926 (1992)]
报道了采用 SR-3Y1 细胞的试验实施例。

本发明公开

本发明的目的是提供具有酪氨酸激酶抑制活性和具有抗肿瘤、
15 生物或免疫抑制作用的新的根赤壳菌素衍生物或其可药用盐。

本发明涉及下式(I)表示的根赤壳菌素衍生物或其可药用盐:



其中 R¹ 和 R² 相同或不同, 各自表示氢、烷酰基、链烯酰基或
基二甲基甲硅烷基;

25 (1) 当 X 表示卤素时,

Y 表示氧原子或 R⁴-O-N

{ 其中 R⁴ 表示氢原子或表示取代或未取代的低级烷基

(所说的取代基选自羟基, 低级烷氧基, 低级烷酰氧
叠氨基, 氨基, 一-或二-低级烷氨基, 低级烷酰基氨基,

低级烷酰基氨基, 低级烷酰基氨基, 低级烷酰基氨基, 低级烷酰基氨基,

戊二烯基、己二烯基等)。环亚氨基表示例如邻苯二甲酰亚胺基, 3
酰亚胺基, 戊二酰亚胺基等。

化合物(I)的可药用盐包括酸加成盐, 金属盐, 铵盐, 有机胺加成
氨基酸加成盐等。酸加成盐的实例包括无机酸盐(例如盐酸盐、氢
5 盐、硫酸盐、磷酸盐等), 和有机酸盐(例如甲酸盐、乙酸盐、草酸
苯甲酸盐、甲磺酸盐、对甲苯磺酸盐、马来酸盐、富马酸盐、酒
盐、柠檬酸盐、琥珀酸盐、乳酸盐等)。金属盐的实例包括碱金属盐
如锂盐、钠盐、钾盐等), 碱土金属盐(例如镁盐、钙盐等), 铝
锌盐等。铵盐的实例包括铵盐, 四甲基铵盐等。有机胺加成盐的实
10 括与吗啉、哌啶等形成的盐。氨基酸加成盐的实例包括与甘氨酸、
氨酸、天冬氨酸、谷氨酸、赖氨酸等形成的盐。

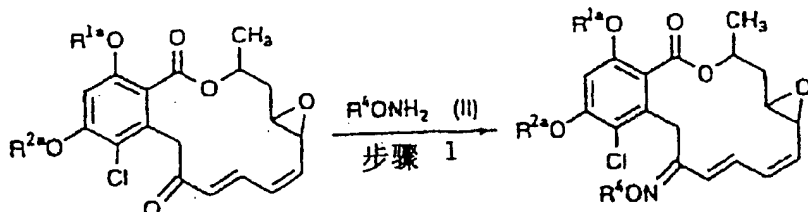
通常本发明化合物是采用旋光性的根赤壳菌素作为起始原料制
的, 并且其所有可能的立体异构体和异构体的混合物均包括在本发明
范围之内。

15 下面描述了化合物(I)的制法。

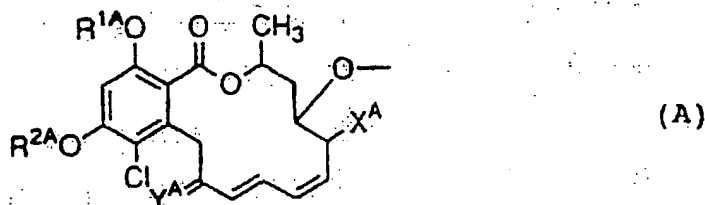
化合物(I)的制备方法主要包括下述反应步骤: 肟的形成(步骤 1
卤代醇的形成(步骤 2)和酰化反应(步骤 3)。根据目的化合物的
同可将上述反应步骤结合采用。

下面描述的制备方法中, 在所用方法中定义的基团发生变化或
20 的基团不适用于所采用的方法时, 可通过采用引入-消除保护基的方法
到目的化合物, 所述保护基是在有机合成化学中经常采用的[例如可参
“有机合成中的保护基”(Protective Group in Organic Synthesis)
T.W.Greene, John Wiley & Sons Inc.(1981)]。而且, 如果必要的话, 可
改变反应步骤(如引入取代基)的顺序。

25 制备方法 1:



(其中 Z 表示下式 (A)) :



其中 X^A , R^{1A} , R^{2A} 的定义分别同 X , R^1 和 R^2 ; 和
 Y^A 表示氧原子或 $R^{4A}-O-N$

(其中 R^{4A} 的定义同 R^4) ; 和

(2) 当 X 与 R^3 彼此结合表示单键时;

Y 表示 $R^{4B}-O-N$

(其中 R^{4B} 的定义同 R^4)。

下文中式(I)表示的化合物被称为化合物(I)。其它通式标号的化合物也按同样的方式称呼。

在化合物(I)各基团的定义中, 烷酰基是指具有 1-20 个碳原子的直链或支链烷酰基(例如甲酰基、乙酰基、丙酰基、丁酰基、己酰基、月桂酰基、肉豆蔻基、棕榈酰基、硬脂酰基等)。链烯酰基是指具有 3-20 个碳原子的直链或支链链烯酰基(例如棕榈油酰基、亚油酰基、亚麻酰基等)。卤素是指氟, 氯, 溴或碘原子。低级烷基是指具有 1-8 个碳原子的直链或支链烷基(例如甲基、乙基、丙基、异丙基、丁基、异丁基、仲丁基、叔丁基、戊基、异戊基、己基、庚基、辛基等)。

取代的低级烷基的取代基是 1-3 个相同或不同的基团(例如羟基、低级烷氧基、低级烷酰氧基、叠氮基、氨基、一-或二-低级烷氨基、低级烷酰基氨基、低级烷氧羰基氨基、低级链烯氧基羰基氨基、羧基、低级烷氧羰基、低级烷基氨基甲酰基和环亚氨基等)。低级烷基氨基甲酰基是指在氨基甲酰基的氮原子上取代有 1-2 个低级烷基基团。

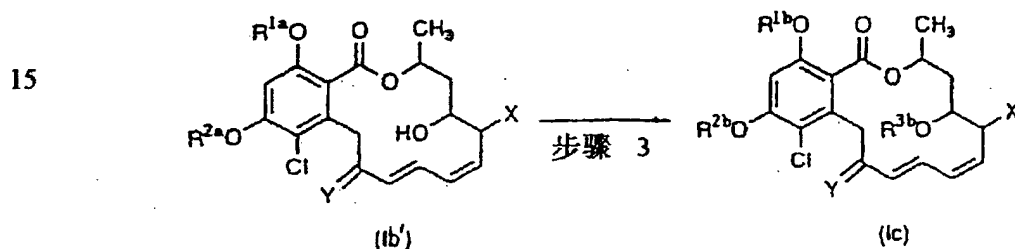
这里, 低级烷氧基、低级烷酰氧基、一-或二-低级烷氨基、低级烷酰基氨基、低级烷氧羰基氨基、低级烷氧羰基和低级烷基氨基甲酰基中的烷基部分的定义同上述低级烷基的定义, 其中一个碳原子可被硅原子替代。低级链烯氧基羰基氨基中的低级链烯基是指具有 2-6 个碳原子的直链或支链链烯基(例如乙烯基、烯丙基、丁烯基、戊烯基、己烯基、

其中 R^{3a} 为甲酰基的一系列化合物 (Ib) 可在二甲基甲酰胺中过下述化合物 (Ia) 或 (C) 与草酰氯, 磷酰氯或磷酰溴的反应制得。相对化合物 (Ia) 或 (C) 而言磷酰氯或磷酰溴的用量通常是 1 或更多, 优选 2-5 当量。反应通常在 -10°C 至 40°C 进行 1-48 小时。

5 步骤 2-3

其中 R^{3a} 为 $-\text{SO}-\text{Z}$ (其中 Z 的定义如上所述) 化合物 (Ib) 的体可通过下述化合物 (Ia) 或 (C) 与亚硫酰氯或亚硫酰溴的反应制备。二甲基甲酰胺, 氯仿, 二氯甲烷, 二甲亚砜, 乙腈等可单独作剂或以它们的混合物作为溶剂。相对化合物 (Ia) 或 (C) 而言酰氯或亚硫酰溴用量通常是 1 当量或更多, 优选 2-10 当量。反应通

10 制备方法 3



20 (在上式中, R^{1a} , R^{2a} , X 和 Y 的定义如上所述; R^{1b} 和 R^{2b} 的分别与 R^{1a} 和 R^{2a} 相同; 和 R^{3b} 表示烷酰基或链烯酰基)。

步骤 3:

其中羟基用烷酰基或链烯酰基修饰的化合物 (Ic) 可在碱存在通过下述化合物 (Ib') 与 1 当量或更多等量 (优选 1-100 当量) 的目标烷酰基或链烯酰基的酰氯, 酸酐或混合酸酐进行反应制备。虽羟基的修饰受适当引入和除去羟基保护基的影响, 但是同时修饰羟基也是可能的。作为碱使用的吡啶, N,N-二甲基苯胺, N,N-二苯胺等的用量相对化合物 (Ib') 而言通常是 1 当量或更多, 优选 1

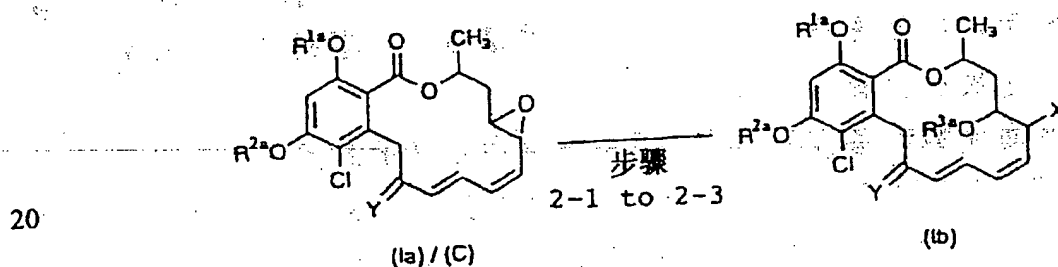
(在上述通式中, R^{1a} 和 R^{2a} 分别表示从上述定义的 R^1 和 R^2 除去四甲基甲硅烷基的基团; 和 R^4 的定义如上)。

步骤 1:

根赤壳菌素或采用已知方法从根赤壳菌素得到的化合物 (C) (未
5 审日本专利申请公开 No.226991/92) 可用作起始原料。

化合物 (Ia) 可通过下面化合物 (C) 与化合物 (II) 或其酸加
成盐的反应制备。吡啶, 氯仿, 二氯甲烷, 乙醚, 四氢呋喃, 二甲基甲
酰胺, 乙腈等可单独作为溶剂或以其混合物作为溶剂。当采用化合物
(II) 酸加成盐时, 反应在碱例如胺 (如吡啶、三乙胺、二异丙基乙胺
10 等) 存在下, 或在碱金属碳酸盐或碳酸氢盐 (如碳酸钠、碳酸钾等) 存
在下进行, 相对化合物 (II) 而言使用量为 1 当量或更多, 优选采用也
可作为溶剂的吡啶。化合物 (II) 或其酸加成盐的用量对根赤壳菌素而
言通常是 1 当量或更多, 优选 2-10 当量。反应通常在 20-100 °C 进行 1-
80 小时。

15 制备方法 2:



{ 在上式中, R^{1a} , R^{2a} , X 和 Y 的定义如上所述; 和 R^{3a} 表示氢、甲
酰基或 -SO-Z (其中 Z 的定义如上所述) }。

25 步骤 2-1

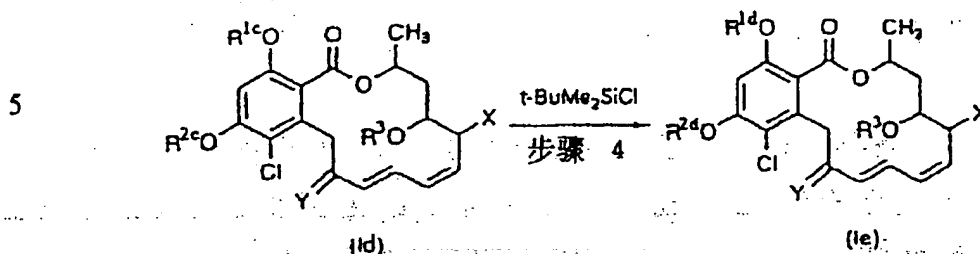
其中 R^{3a} 为氢的一系列化合物 (Ib) 可通过下述化合物 (Ia) 或
(C) 与酸 (例如盐酸、氢溴酸等) 或路易斯酸 (如四氯化钛等) 的反
应制备。二噁烷, 四氢呋喃, 乙醚, 氯仿, 二氯甲烷, 二甲基甲酰胺,
乙腈等可单独作为溶剂或以它们的混合物作为溶剂。酸或路易斯酸的用
30 量相对化合物 (Ia) 或 (C) 而言通常是 1 当量或更多, 优选 1-10 当
量。反应通常在 -20 °C 至 40 °C 进行 10 分钟-48 小时。

步骤 2-2

化合物(I)的实例如表 1 所示。

在-20℃至50℃进行5分钟-24小时。

制备方法4：



10 { 在上式中，X，Y和R³的定义如上所述；R^{1c}和R^{2c}均为氢，或其中一个为氢而另一个为烷酰基或链烯酰基，和R^{1d}和R^{2d}表示上述的R^{1c}和R^{2c}至少一个氢原子被t-BuMe₂Si取代的基团（其中t-BuMe₂Si表示叔丁基二甲基甲硅烷基）。 }

步骤4

15 化合物(Ie)可在碱存在下，通过化合物(Id)与叔丁基二甲基甲硅烷基氯的反应制备。氯仿，二氯甲烷，乙醚，四氢呋喃，丙酮，二甲基甲酰胺，乙腈等可单独作为溶剂或以它们的混合物作为溶剂。可采用胺（如吡啶、咪唑、三乙胺、二异丙基乙胺等）作为碱。叔丁基二甲基甲硅烷基氯的用量相对化合物(Id)而言通常是1当量或更多，优选

20 1-10当量。碱的用量相对叔丁基二甲基甲硅烷基氯而言，通常是1当量或更多，优选1-5当量。反应通常在0-50℃进行10分钟-24小时。

在化合物(I)的制备方法中，R¹, R², R³, X或Y官能基的转化不仅可通过上述的步骤进行，而且可以通过已知的方法进行[例如，Comprehensive Organic Transformations, R.C.Larock(1989)]。

25 将有机合成中常用的技术（如过滤、提取、洗涤、干燥、浓缩、结晶、多种类型的色谱法等）任选地结合可进行上述方法产物的分离和纯化。中间体可不经纯化用于下一个步骤。

如果需要得到化合物(I)的盐，化合物(I)的盐可在其能得到时如上述进行纯化；或者，当化合物是以游离碱形式获得时，可通过将游离碱溶

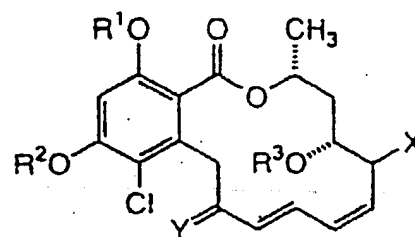
30 解或悬浮于合适的溶剂中，并向其中加入酸或碱而形成它们的盐。

而且，化合物(I)或其可药用盐可以与水或多种溶剂的加成产物的形式存在，这些加成产物也包括在本发明的范围之内。

表 1(-1)

化合物(I)的实例

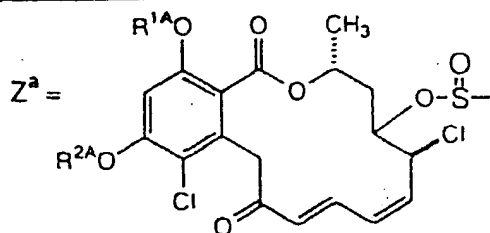
5



10

化合物	R ¹ , R ²	R ³	X	Y
1	H	HCO	Cl	O
2	H	H	Cl	O
3	H	H	Br	O
4	H	Z ^a	Cl	O
5	CH ₃ CO	CH ₃ CO	Cl	O
6	CH ₃ CO	HCO	Cl	O
7	CH ₃ CO	Z ^a	Cl	O
8	H	—		NOH
9	H	—		NOCH ₃
10	(CH ₃) ₃ C(CH ₃) ₂ Si	—		O
11	(CH ₃) ₃ C(CH ₃) ₂ Si	—		NOH
12	(CH ₃) ₃ C(CH ₃) ₂ Si	—		NOCH ₂ OCH ₃
13	H	—		NOCH ₂ OCH ₃
14	H	—		NO(CH ₂) ₃ N ₃
15	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	HCO	Cl	O
16	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	Z ^a	Cl	O

25



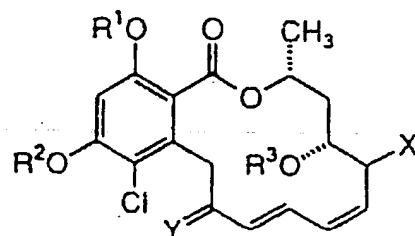
30

(其中 R^{1A} 和 R^{2A} 的定义分别与上述的 R¹ 和 R² 相同)

在 R³ 和 X 定义中的 “—” 表示 R³ 和 X 彼此结合形成的单键。

表 1 (2)

化合物(I)的实例



化合物	R ¹ , R ²	R ³	X	Y
17	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	H	Cl	O
18	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	CH ₃ CO	Cl	O
19	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	H	Br	O
20	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	CH ₃ CO	Br	O
21	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	CH ₃ (CH ₂) ₁₄ CO	Br	O
22	(CH ₃) ₃ C(CH ₃) ₂ Si	—		NO(CH ₂) ₆ PhI
23	H	—		NO(CH ₂) ₆ PhI
24	H	—		NO(CH ₂) ₆ N ₃
25	H	—		NO(CH ₂) ₅ CO ₂ C(CH ₃) ₃
26	H	—		NO(CH ₂) ₅ CO ₂ (CH ₂) ₂ Si(CH ₃) ₃
27	H	—		NO(CH ₂) ₆ NHCO ₂ CH ₂ CH=CH ₂
28	H	—		NO(CH ₂) ₅ CO ₂ H
29	H	—		NOCH ₂ CO ₂ H

实施本发明的最好模型

下面，通过以下试验实施例描述化合物(I)的典型实例的药理活

试验实施例 1

细胞内酪氨酸激酶的抑制试验：

- 5 采用含有 10%牛胎儿血清的 Dulbecco 改进的 Eagle 培养基 (DMEM)，其中已加入各种浓度的试验根赤壳菌素衍生物，在二氧化碳气氛中于 37℃ 培养 SR-3Y1 细胞 15 小时。如此培养的细胞，却在的缓冲溶液中 4℃ 溶解 20 分钟进行溶胞 (50mM Tris HCl, PH 7.5, 150mM NaCl, 1% Triton X-100, 0.1% SDS, 1% 脱氧胆酸钠, 2mM
- 10 EDTA, 1mM PMSF, 20μM 亮肽酶素, 0.15 单位/ml 抑肽酶, 1 Na₃VO₄)，然后在 20,000g 离心 30 分钟。测量所得上清液的蛋白浓度后,将每道 (lane) 样品调整到同样的蛋白质量以通过 SDS-PAGE: 蛋白质分离。将这样分离的蛋白质样品转移到硝基纤维素膜上，随其上加入小鼠多克隆磷酸酪氨酸抗体 MX-pTYR (Kyowa Medex
- 15 CO., Ltd) 作为第一抗体和辣根过氧化物酶-偶合小鼠 IgG 抗体 (BIRAD Co.) 作为第二抗体，从而可影响它们在膜上与蛋白质样品的反应。采用 ECL 试剂 (Amersham Co.) 进行测定，和通过扫描从 X-射线得到的带密度测定酪氨酸-磷酸化蛋白质的量。根赤壳菌素衍生物抑制酪氨酸磷酸化作用的活性可通过与不加药物的对照组相比，使酪氨酸-磷酸化蛋白质的比例减少一半时各衍生物的浓度 (IC₅₀) 来表示。
- 20

结果列于表 2 中。

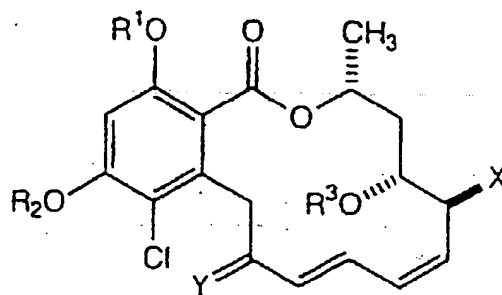
表 2

细胞内酪氨酸激酶的抑制活性

化合物	IC ₅₀ (μM)
根赤壳菌素	0.18
8	0.02
9	<0.05
10	0.15
11	0.02

表 1 (3)

化合物(I)的实例



化合物	-R ¹ , -R ²	-R ³	-X	=Y
30	-H	—		=NOCH ₂ CON(CH ₃) ₂
31	-H	—		=NO(CH ₂) ₃ OH
32	-CO(CH ₂) ₁₄ CH ₃	—		=NOCH ₃
33	-H	-H	-Cl	=NOCH ₃
34	-H	-H	-Br	=NOCH ₃
35	-H	-CHO	-Cl	=NOCH ₃
36	-H	-H	-Cl	=NOCH ₂ CON(CH ₃) ₂

在 R³ 和 X 定义中的“ - ”表示 R³ 和 X 彼此结合形成的单键。

试验实施例 3

对 P338 白血病的抗肿瘤试验

移植 7 天后从 P338 腹水-诱导的小鼠(DBA/2)的腹腔中收集腹水, 腹水中的 P338 细胞计数, 采用无菌生理盐水制成 5×10^6 细胞/ml 的, 细胞悬浮液, 并将其中的 0.2ml 部分 (含有 1×10^6 细胞)移植到 CDF₁ 的腹腔中, 小鼠体重为 20-25g。在肿瘤移植 24 小时后, 将各个试验化溶于含有聚氧乙烯脱水山梨糖醇单月桂酸酯的生理盐水中, 在肿瘤移 10 小时后将各个 0.2ml 部分加到 CDF₁ 小鼠(每组 5 只动物)的腹腔中, 然 察小鼠的存活天数共观察 30 天。通过服用试验化合物组与对照组小鼠 处理组)平均存活天数的比判断试验化合物的作用(延长生命期, ILS%) 结果列于表 4 中。

表 4

对 P338 白血病的抗肿瘤活性

化合物	ILS(%)
根赤壳菌素	27
1	38
3	46
4	42

15

从表 4 看出, 与根赤壳菌素相比化合物(I)可显著地延长生命期, 而可用作抗肿瘤剂。

试验实施例 4

对肉瘤 180 固体肿瘤的抗肿瘤试验

20 在 ddY 小鼠腹腔内移植 5×10^6 肉瘤 180 细胞 7 天后, 从腹水 集细胞, 用无菌生理盐水洗涤一次, 然后采用无菌生理盐水制成 $5 \times$ 细胞/ml 的细胞悬浮液。将 0.1ml 细胞悬浮液移植到 ddY 小鼠(体重 20 的右腋区皮下, 肿瘤移植后 24 小时, 将 0.1-0.2ml 的各个试验化合 脉注射到 ddY 小鼠(每组 5 只动物)中, 上述试验化合物是溶于生理 液或水或生理盐水中。

制细胞内酪氨酸激酶活性的作用,因此可用作酪氨酸激酶抑制剂。

试验实施例 2

对 HeLa S₃ 细胞的细胞生长抑制试验:

用含有 10%牛血清和 2mM 的谷氨酸的 MEM 介质(由 Nissui

- 5 Pharmaceutical 制造)将 HeLa S₃ 细胞调至 3.0×10^4 细胞/ml,并按 0.1ml/孔分份将其分散于 96 孔微量滴定平板上。在二氧化碳气体培养箱中于 37℃ 培养细胞 20 小时,除去培养液中的上清液,然后用生理盐水洗涤平板一次,之后向各个孔中加入含有各试验化合物的 0.1ml 介质,并在二氧化碳气体培养箱中用于 37℃ 下培养细胞 72 小时。除去培养液中的
- 10 上清液后,向各孔中加入含有 0.02%中性红的 0.1ml 介质,并在二氧化碳气体培养箱中 37℃ 下将细胞染色 1 小时。除去培养液中的上清液后,用生理盐水洗涤平板一次,用 0.001N 盐酸/30%乙醇提取染料,然后通过微量板读数器测定 550nm 的吸收值。通过将未处理细胞的吸收值与用已知浓度的各样品处理过的细胞的吸收值进行比较,可以计算出各个试验
- 15 化合物抑制 50%细胞生长的浓度 (IC_{50})。

结果列于表 3 中。

表 3

对 HeLa S₃ 细胞的细胞生长抑制活性

化合物	$IC_{50}(\mu M)$
根赤壳菌素	6.7
4	6.0
6	5.0
7	1.5
8	0.09
9	0.05
10	3.2
11	0.12
13	0.02
14	0.05

20

从表 3 看出,化合物(I)显示了对 HeLa S₃ 细胞的细胞生长抑制活性,这种活性大于已知的根赤壳菌素的活性,因此可用作抗肿瘤剂。

CA: 白色假丝酵母(*Candida albicans*) ATCC 10231

BS: 枯草芽孢杆菌(*Bacillus subtilis*) No.10707

EH: *Enterococcus hirae* ATCC 10541

从表 6 中看出, 化合物(I)显示抗菌活性, 因而可用作抗菌剂。

5

试验实施例 6

通过混合小鼠淋巴细胞培养反应进行的 T 细胞生长抑制试验

从 AKR 小鼠(Japan SLC Co.,Ltd)身上无菌地切下脾脏并制成单
悬浮液。将上述悬浮液与丝裂霉素 C(MMC)(Kyowa Hakko Kogyo Co
混合(最后浓度 $50 \mu\text{g/ml}$)并在 37°C 培养 30 分钟。培养后用溶液(H
10 洗涤细胞三次, 上述溶液是将 2.5%牛胎儿血清(FCS, Gibco Co.)加至
Hank'平衡盐溶液(Gibco Co.)中而制成的, 然后调节到 1×10^7 细胞

将 $50 \mu\text{l}$ 的 B10.BR 小鼠(Japan SLC Co.,Ltd)淋巴结细胞悬浮液
有 1.5×10^5 细胞), $50 \mu\text{l}$ 的 AKR 小鼠脾细胞悬浮液(含有 5×10^5
和 $100 \mu\text{l}$ 含有各试验浓度根赤壳菌素的溶液加到 96 孔微量滴定平
15 各孔中, 并在二氧化碳培养箱中 37°C 培养 72 小时。培养完成前 18
加入 $1.0 \mu\text{Ci}$ 部分的 $[^3\text{H}]$ -胸腺嘧啶。培养完成后, 用细胞收集器通
纸收集细胞并干燥, 然后向其中加入甲苯闪烁剂, 采用闪烁计数器;
结合到细胞上的放射活性 $[^3\text{H}]$ -胸腺嘧啶的量(试验组)。在对照组中
行同样的培养, 只是不加入化合物(I)溶液, 然后测量结合到细胞上
20 放射活性 $[^3\text{H}]$ -胸腺嘧啶的量。根据下式计算 T 细胞的生长抑制比, 并
计算抑制 50%生长时各个试验化合物的浓度(IC_{50})。

T 细胞的生长抑制比(%)

$$\begin{aligned} & \text{对照组放射活性} - \text{试验组放射活性} \\ 25 \quad & = \frac{\text{对照组放射活性} - \left[\begin{array}{cc} \text{MMC-处理的} & \text{刺激前 B10.BR} \\ \text{AKR 小鼠的} & \text{小鼠的} \\ \text{放射活性} & \text{放射活性} \end{array} \right]}{\text{对照组放射活性} - \text{刺激前 B10.BR 小鼠的放射活性}} \end{aligned}$$

值(T/C)表示各个试验化合物的抗肿瘤活性。

结果列于表 5 中。

表 5

对肉瘤 180 固体肿瘤的抗肿瘤活性

化合物	T/C(%)
根赤壳菌素	88
1	51
2	50
4	39

从表 5 中看出, 与根赤壳菌素相比化合物(I)显示出色的抗肿瘤活性, 因而可用作抗肿瘤剂。

试验实施例 5

10 抗菌活性试验

采用下述方法制备的介质(PH7)通过琼脂稀释法测量抗菌活性: 将 3g 细菌用胰化冻 (Bacto-Tryptone) (Difco 制造), 3g 肉提取物, 1g 酵母提取物, 1g 葡萄糖和 16g 琼脂溶于 1 升水。抗菌活性由最小生长抑制浓度 (MIC) 表示。

15 结果列于表 6 中。

表 6

抗菌活性

化合物	最小生长抑制浓度 ($\mu\text{g/ml}$)		
	CA	BS	EH
根赤壳菌素	20	83	—
1	—	83	—
3	—	83	—
4	2.6	1.3	2.6
9	6.5	52	—

将 1ml 的磷酸氯滴加到冰浴冷却的 5ml 二甲基甲酰胺中，在室拌 30 分钟后，在冰浴冷却下将这样制备的溶液缓慢加到根赤壳菌素的二甲基甲酰胺溶液(20ml)中，并在室温搅拌混合物 24 小时。用乙酯(200ml)稀释反应溶液，以水洗涤三次，然后用无水硫酸钠干燥。
5 蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化残留物(2%甲醇/氯仿)，得到 1 化合物 1。

$^1\text{HMR}(\text{CD}_3\text{OD}) \delta (\text{ppm}) : 8.00 (1\text{H}, \text{s}), 7.14 (1\text{H}, \text{ddd}, 1.0, 11.2, \text{Hz}), 6.44 (1\text{H}, \text{s}), 6.16 (1\text{H}, \text{t}, 10.8 \text{ Hz}), 5.95 (1\text{H}, \text{d}, 16.1 \text{ Hz}), 5.68$
10 $\text{t}, 10.0 \text{ Hz}), 5.32 (1\text{H}, \text{m}), 5.25 (1\text{H}, \text{m}), 5.20 (1\text{H}, \text{dd}, 5.6, 10.0 \text{ Hz}), (1\text{H}, \text{d}, 16.1 \text{ Hz}), 3.65 (1\text{H}, \text{d}, 16.1 \text{ Hz}), 1.97 (1\text{H}, \text{m}), 1.42 (3\text{H}, \text{d}, 6.3$
FAB - MS $m/z : 429 [\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 2

15 化合物 2:

在冰浴冷却些下将 1.3ml 的浓盐酸(36%)滴加到根赤壳菌素(2g) | 噁烷溶液(70ml)中，并在室温搅拌所得的混合物 6 小时。将反应溶
水(100ml)混合，冰浴冷却下用饱和碳酸氢钠水溶液小心地中和，然 | 乙酸乙酯(150ml)提取三次。用无水硫酸钠干燥提取物，减压蒸去溶
20 后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(2%甲醇/氯仿)，得到 1g 化合物 2

$^1\text{H} - \text{NMR} (\text{CD}_3\text{OD}) \delta (\text{ppm}) : 7.25 (1\text{H}, \text{ddd}, 1.0, 11.3, 16.4 ;$
6.50 (1H, s), 6.21 (1H, dt, 1.0, 11.7 Hz), 5.99 (1H, d, 16.4 Hz), 5.79 (|
dt, 1.0, 11.7 Hz), 5.42 (1H, m), 5.17 (1H, ddd, 1.0, 5.9, 11.7 Hz), |
25 (1H, d, 16.4 Hz), 4.03 (1H, dd, 5.9, 8.1 Hz), 3.70 (1H, d, 16.4 Hz), :
(1H, ddd, 1.2, 6.8, 15.1 Hz), 1.93 (1H, ddd, 3.7, 8.1, 15.1 Hz), 1.46 (3H
6.3 Hz)

FAB - MS $m/z : 401 [\text{M}+\text{H}]^+$

射剂量。)

结果列于表 7 中。

表 7

混合的小鼠淋巴细胞培养反应的 T 细胞生长抑制比(%)

5

化合物	IC ₅₀ (μ M)
根赤壳菌素	0.15
3	0.3
8	0.01
9	0.02
19	0.15

从表 7 中可以看出, 化合物(I)通过混合小鼠淋巴细胞培养反应可抑制 T 细胞的生长, 从而明显显示了免疫抑制作用。而且, 其抑制作用优于现有技术中的根赤壳菌素。

10 化合物(I)或其可药用盐可以其本身通过口服或非肠道施用, 或者以药物组合物形式施用。所述药物组合物剂量形式的实例包括片剂, 丸剂, 粉剂, 粒剂, 胶囊, 栓剂, 注射液, 滴输注剂等。

这些剂型一般可采用已知方法制备并且其中可含有多种填充剂, 润滑剂, 结合剂, 崩解剂, 悬浮剂, 张力剂, 乳化剂, 吸收增强剂等。

15 可在药物组合物中使用的载体的实例包括水, 注射用蒸馏水, 生理盐水, 葡萄糖, 果糖, 蔗糖, 甘露糖醇, 乳糖, 淀粉, 玉米淀粉, 纤维素, 甲基纤维素, 羧甲基纤维素, 羟丙基纤维素, 藻酸, 滑石, 柠檬酸钠, 碳酸钙, 磷酸氢钙, 硬脂酸镁, 脲, 硅树脂, 脱水山梨糖醇脂肪酸酯, 甘油脂肪酸酯等, 这些载体可根据药物制剂的类型任选采用。

20 虽然为了上述的目的时, 根据想要的治疗作用、施用方法、治疗期、年龄、体重等可以改变剂量和施用次数, 但是通常成人可按每天 0.01-5mg/kg 的剂量施用。

本发明的实施方式可参考下面实施例和参考实施例的叙述。这里, 各化合物的结构式列于前面表 1 中。

25

实施例 1

化合物 1:

^1H - NMR (CD_3OD) δ (ppm) : 7.06 (1H, s), 6.93 (1H, dd, 11.2, 5.40 Hz), 6.12 (1H, t, 11.2 Hz), 6.04 (1H, d, 16.1 Hz), 5.73 (1H, t, 11.2 Hz), 5.40 (1H, m), 5.14 (1H, t, 8.0 Hz), 5.00 (1H, ddd, 1.1, 8.0, 11.2 Hz), 5 (1H, d, 16.3 Hz), 3.96 (1H, d, 16.3 Hz), 2.35 (3H, s), 2.34 (3H, s), 2.21 dd, 8.7, 15.4 Hz), 2.04 (1H, ddd, 3.3, 8.7, 15.4 Hz), 1.96 (3H, s), 1.54 d, 6.3 Hz)

FAB - MS m/z : 527 $[\text{M}+\text{H}]^+$

10

实施例 6

化合物 6:

将乙酸酐(1ml)加到化合物 1(166mg)的吡啶溶液(1ml)中,并在搅拌所得的混合物 13 小时。用水稀释反应溶液并用乙酸乙酯(50ml)提取。按稀盐酸水溶液,饱和碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液
15 序洗涤提取物。用无水硫酸钠干燥,减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱法纯化所得残留物(2:1 正己烷/乙酸乙酯),得到 174mg 化合物 6。

^1H - NMR (CD_3OD) δ (ppm) : 7.99 (1H, s), 7.07 (1H, s), 6.93 (1H, s), 6.14 (1H, t, 11.1 Hz), 6.04 (1H, d, 16.3 Hz), 5.75 (1H, t, 11.1 Hz), 5.43 (1H, m), 5.34 (1H, t, 7.5 Hz), 5.05 (1H, dd, 7.5, 11.1 Hz), 20 4.31 (1H, d, 16.2 Hz), 3.96 (1H, d, 16.2 Hz), 2.35 (3H, s), 2.34 (3H, s), 2.06 (1H, m), 1.57 (3H, d, 6.4 Hz)

FAB - MS m/z : 513 $[\text{M}+\text{H}]^+$

25

实施例 7

化合物 7:

将乙酸酐(0.5ml)加到化合物 4(30mg)的吡啶溶液(0.5ml)中,并温搅拌所得的混合物 13 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1:1 正己烷/乙酸乙酯),得到 30mg 化合物 7。

二噁烷溶液(50ml)中,并在室温搅拌所得的混合物2小时。将反应溶液与水(100ml)混合,冰浴冷却下用饱和碳酸氢钠水溶液小心地中和,然后用乙酸乙酯(150ml)提取三次。用无水硫酸钠干燥提取物,减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(2%甲醇/氯仿),得到1.7g化合物3。

^1H -NMR (CD_3OD) δ (ppm): 7.28 (1H, dd, 10.8, 16.0 Hz), 6.51 (1H, s), 6.13 (1H, t, 10.8 Hz), 6.00 (1H, d, 16.0 Hz), 5.96 (1H, t, 10.8 Hz), 5.40 (1H, m), 5.33 (1H, dd, 5.2, 10.8 Hz), 4.24 (1H, d, 16.1 Hz), 4.18 (1H, m), 3.71 (1H, d, 16.1 Hz), 2.08 (1H, m), 1.92 (1H, m), 1.45 (3H, d, 6.4 Hz)

FAB-MS m/z : 445, 447 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 4

化合物 4:

冰浴冷却下将 0.5ml 的亚硫酸氯滴加到根赤壳菌素(1.4g)的二甲基甲酰胺溶液(7.5ml)中,在室温搅拌混合物12小时。加入乙酸乙酯(100ml)稀释反应溶液并用水洗涤三次。用无水硫酸钠干燥,减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(4%甲醇/氯仿),得到1.0g化合物4。

^1H -NMR (CD_3OD) δ (ppm): 7.15 (2H, dd, 10.8, 16.1 Hz), 6.52 (2H, s), 6.27 (2H, t, 10.8 Hz), 6.05 (2H, d, 16.1 Hz), 5.73 (2H, t, 10.8 Hz), 5.39 (2H, m), 5.35 (2H, m), 4.88 (2H, m), 4.28 (2H, d, 16.4 Hz), 3.74 (2H, d, 16.4 Hz), 2.27 (2H, m), 2.10 (2H, m), 1.50 (6H, d, 6.3 Hz)

FAB-MS m/z : 847 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 5

化合物 5:

将 0.75ml 乙酸酐加到化合物 2(170mg)的无水吡啶溶液(1ml)中,并在室温搅拌所得的混合物10小时。用20ml乙酸乙酯稀释反应溶液,然后按水,稀盐酸水溶液和饱和碳酸氢钠水溶液的顺序进行洗涤。用无水硫酸钠干燥,减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(2:1正己烷/乙酸乙酯),得到125mg化合物5。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.3, 16.2 Hz), 6.70 (1H, d, 16.2 Hz), 6.42 (1H, s), 6.14 (1H, t, 11.3 Hz), 5.58 (1H, d, 3.6, 11.3 Hz), 5.30 (1H, m), 3.904 (1H, d, 16.1 Hz), 3.901 (1H, s), 3.80 (1H, d, 16.1 Hz), 3.33 (1H, m), 3.01 (1H, m), 2.00 (1H, ddd, 3.5, 3.5, 14.5 Hz), 1.59 (1H, ddd, 4.1, 9.0, 14.5 Hz), 1.52 (3H, d, 6.5 Hz)
FAB-MS m/z: 394 [M+H]⁺

10

实施例 10

化合物 10:

冰浴冷却根赤壳菌素(500mg)的二甲基甲酰胺溶液(7.5ml), 将咪唑(700mg)和叔丁基二甲基硅烷氯化物(1.1g)的二甲基甲酰胺(2.5ml)依次混合, 在室温搅拌所得的混合物 12 小时。通过加入乙酸(50ml)稀释反应溶液, 然后用水洗涤两次。用无水硫酸钠干燥, 减压溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(3:1 正己烷/乙酸乙酯)到 902mg 化合物 10。

20 ¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 7.58 (1H, dd, 10.8, 16.2 Hz), 6.39 (1H, s), 6.13 (1H, ddd, 1.1, 10.8, 10.8 Hz), 6.04 (1H, d, 16.2 Hz), 5.78 (1H, dd, 3.5, 10.8 Hz), 5.32 (1H, m), 3.89 (1H, d, 16.1 Hz), 3.70 (1H, d, 16.3 Hz), 3.40 (1H, ddd, 1.9, 1.9, 3.4 Hz), 3.02 (1H, ddd, 1.9, 2.3, 9.4 Hz), 2.44 (1H, ddd, 3.2, 3.2, 14.5 Hz), 1.54 (3H, d, 6.6 Hz), 1.50 (1H, m), 1.00 (9H, s), 0.24 (9H, s), 0.24 (3H, s), 0.22 (3H, s), 0.21 (3H, m), 0.20 (3H, m)
25 FAB-MS m/z: 593 [M+H]⁺

5.45 (2H, m), 5.05 (2H, dd, 7.8, 9.7 Hz), 4.82 (2H, dd, 8.5, 8.4 Hz), 4.30 (2H, d, 15.8 Hz), 3.95 (2H, D, 15.8 Hz), 2.338 (6H, s), 2.337 (6H, s), 2.25 (2H, m), 2.06 (2H, m), 1.54 (6H, d, 6.4 Hz)

FAB-MS m/z : 1015 [M+H]⁺

5

实施例 8

将盐酸羟胺(20mg)加到根赤壳菌素(42mg)的吡啶溶液(2ml)中,并在 50 °C 搅拌所得的混合物 8 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(25:1 氯仿/甲醇)得到 10mg 化合物 8。通过 ¹H NMR 鉴定所得的化合物 8 发现为异构体的混合物(约 3:1),这是因为肟羟基的存在所致。

10

¹H - NMR (CD₃OD) δ (ppm) : 7.22 (1H, dd, 11.3, 16.2 Hz), 7.12 (0.5H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.83 (1.5H, d, 16.2 Hz), 6.43 (1H, s), 6.42 (0.5H, s), 6.16 (1H, t, 11.3 Hz), 6.11 (0.5H, t, 11.2 Hz), 5.58 (1H, dd, 3.6, 11.3 Hz), 5.46 (0.5H, dd, 3.4, 11.2 Hz), 5.30 (1.5H, m), 4.79 (0.5H, d, 16.3 Hz), 4.72 (0.5H, d, 16.3 Hz), 3.91 (1H, d, 16.1 Hz), 3.81 (1H, d, 16.1 Hz), 3.35 (1.5H, m), 3.02 (1.5H, m), 2.97 (0.5H, m), 2.42 (1.5H, m), 1.60 (1.5H, m), 1.53 (3H, d, 6.6 Hz), 1.52 (1.5H, d, 7.7 Hz)

15

20 FAB-MS m/z : 380 [M+H]⁺

实施例 9

化合物 9:

将 O-甲基羟胺盐酸盐(100mg)加到根赤壳菌素(200mg)的吡啶溶液(1ml)中,并在 80 °C 搅拌所得的混合物 90 分钟。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1%甲醇/氯仿)得到 34mg 化合物 9。

25

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 7.24 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 7.12 (dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.81 (1H, d, 16.1 Hz), 6.36 (2H, s), (1H, ddd, 2.0, 11.2, 11.2 Hz), 6.07 (1H, ddd, 1.5, 11.2, 1 Hz), 5.66 (1H, dd, 2.9, 11.2 Hz), 5.52 (1H, dd, 3.2, 11.2 Hz), 5.28 (2H, m), 5.22 (2H, ABq, 7.3 Hz), 5.18 (2H, s), 4.81 (d, 16.4 Hz), 3.97 (1H, d, 16.4 Hz), 3.59 (1H, d, 16.4 Hz), 3 (3H, s), 3.48 (3H, s), 3.37 (2H, m), 3.05 (1H, d, 16.4 Hz), 3.02-2.94 (2H, m), 2.45-2.39 (2H, m), 1.56 (3H, d, 7.8 Hz), 1.54 (3H, d, 6.6 Hz), 1.00 (18H, s), 0.943 (9H, s), 0.940 (s), 0.23 (6H, s), 0.21 (6H, s), 0.204 (6H, s), 0.200 (6H, s), FAB-MS m/z: 652 [M+H]⁺

实施例 13

15 化合物 13:

将 1M 四正丁基氟化铵的四氢呋喃溶液(50 μl)加到化合物 12(2. 的四氢呋喃溶液(0.5ml)中,并在室温搅拌所得的混合物 2 小时。加酸乙酯稀释反应溶液,然后用水洗涤两次。用无水硫酸钠干燥,减压去溶剂,然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(2%甲醇/氯仿), 20 11mg 化合物 13。通过 ¹H NMR 鉴定所得的化合物 13 发现为异构混合物(约 1:1),这是因为肟羟基的存在所致。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.29 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 7.18 (1 dd, 11.0, 16.1 Hz), 6.77 (1H, d, 16.1 Hz), 6.43 (2H, s), 6. (1H, t, 11.2 Hz), 6.16 (1H, d, 16.1 Hz), 6.13 (1H, t, 11.0 Hz), 5.61 (1H, dd, 3.4, 11.2 Hz), 5.50 (1H, dd, 3.4, 11.0 Hz), 5. (2H, m) 5.19 (2H, ABq, 7.3 Hz), 5.13 (2H, ABq, 7.1 Hz), 4. (1H, d, 16.6 Hz), 3.95 (1H, d, 16.4 Hz), 3.84 (1H, d, 16.4 Hz), 3.46 (1H, d, 16.6 Hz), 3.47 (3H, s), 3.43 (3H, s), 3.33 (1H m), 3.30 (1H, m), 3.02 (1H, m), 2.97 (1H, m), 2.42 (2H, m)

化合物 11 :

将吡啶(0.1ml)和盐酸羟胺(240mg)加到化合物 10(319mg)的二氯甲烷溶液(5ml)中,然后在 70 ℃ 搅拌所得的混合物 30 小时。将反应溶液冷却到室温,用氯仿稀释,然后按稀盐酸水溶液,饱和碳酸氢钠水溶液和饱和氯化钠水溶液的顺序洗涤提取物。用无水硫酸钠干燥,减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1:1 正己烷/乙酸乙酯),得到 18mg 化合物 11。通过 ^1H NMR 鉴定所得的化合物 11 发现为异构体的混合物(约 1:1),这是因为肟羟基的存在所致。

^1H -NMR (CDCl_3) δ (ppm): 7.24 (1H, dd, 11.3, 16.1 Hz), 7.13 (1H, dd, 11.2, 16.0 Hz), 6.87 (1H, d, 16.1 Hz), 6.37 (1H, s), 6.36 (1H, s), 6.20 (1H, d, 16.0 Hz), 6.14 (1H, t, 11.3 Hz), 6.08 (1H, t, 11.2 Hz), 5.65 (1H, dd, 3.0, 11.3 Hz), 5.53 (1H, dd, 3.1, 11.2 Hz), 5.26 (2H, m), 4.85 (1H, d, 16.3 Hz), 3.91 (1H, d, 16.2 Hz), 3.60 (1H, d, 16.2 Hz), 3.39 (2H, m), 3.01 (1H, d, 16.3 Hz), 2.98 (2H, m), 2.42 (2H, m), 1.56 (3H, d, 6.5 Hz), 1.54 (3H, d, 6.5 Hz), 1.49 (2H, m), 1.00 (18H, s), 0.943 (9H, s), 0.942 (9H, s), 0.23 (6H, s), 0.212 (6H, s), 0.209 (6H, s), 0.20 (6H, s)

FAB-MS m/z : 608 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 12

化合物 12:

在 0 ℃ 下按顺序将二异丙基乙胺(160 μl)和氯甲基甲基醚(75 μl)加到化合物 11(100mg)的二氯甲烷溶液(1ml)中,并在 0 ℃ 搅拌所得的混合物 7 小时。减压蒸去溶剂,然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(5:1 正己烷/乙酸乙酯),得到 58mg 的化合物 12。通过 ^1H NMR 鉴定所得的化合物 12 发现为异构体的混合物(约 1:1),这是因为肟羟基的存在所致。

实施例 16

化合物 16:

将化合物 4(96mg)和 4-二甲氨基吡啶(126mg)的二氯甲烷溶液冷却到 0 ℃, 向其中缓慢滴加入棕榈酰氯并在 0 ℃ 搅拌所得的混
5 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(4:1 正乙酸乙酯), 得到 130mg 化合物 16。

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 7.02 (2H, s), 6.88 (2H, m), 6.16 (t, 10.8 Hz), 6.15 (1H, t, 10.8 Hz), 6.04 (1H, d, 16.2 Hz), 6
10 (1H, d, 16.2 Hz), 5.66 (1H, t, 10.8 Hz), 5.64 (1H, t, 10.8 Hz), 5.43 (2H, m), 5.06 (1H, dd, 6.0, 10.8 Hz), 5.02 (1H, dd, 6.0, 10.8 Hz), 4.80 (1H, br t, 8.8 Hz), 4.68 (1H, br t, 8.6 Hz), 4.48 (1H, d, 16.3 Hz), 4.27 (1H, d, 16.2 Hz), 3.95 (2H, d, 16.3 Hz), 3.93 (2H, d, 16.2 Hz), 2.60-2.52 (8H, m), 2.29-2.18 (2H, m), 2.06 (2H, m), 1.81-1.73
15 (8H, m), 1.522 (3H, d, 6.3 Hz), 1.517 (3H, d, 6.3 Hz), 1.49 (3H, d, 6.3 Hz), 1.21 (96H, m), 0.88 (12H, t, 6.8 Hz)

FAB-MS m/z: 1801.9 [M+H]⁺

实施例 17

化合物 17:

将浓盐酸(36%, 0.5ml)滴加到化合物 a(参考实施例 1 制备)(343mg)的二噁烷溶液(5ml)中, 并在室温搅拌所得的混合物 30 分钟。用水淬灭反应溶液并用无水硫酸钠干燥, 减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法
25 所得残留物(4:1 正己烷/乙酸乙酯), 得到 96mg 化合物 17。

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 7.01 (1H, s), 6.95 (1H, dd, 11.1, 1.1 Hz), 6.21 (1H, t, 11.1 Hz), 6.03 (1H, d, 16.3 Hz), 5.77 (1H, t, 11.1 Hz), 5.51 (1H, m), 4.97 (1H, ddd, 1.0, 6.6, 11.1 Hz), 4.48 (1H, d, 16.2 Hz), 3.97 (1H, t, 6.6 Hz), 3.93 (1H, d, 16.2 Hz), 2.62-2.45 (4H, m), 2.12 (1H, m), 2.01 (1H, m), 1.79-1.69 (30 m), 1.50 (3H, d, 6.3 Hz), 1.44-1.21 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.8 Hz)

实施例 14

化合物 14:

在室温搅拌根赤壳菌素(36.4mg)和 O-(3-叠氮基丙基)羟胺盐酸盐(20mg)的吡啶溶液(0.5ml) 14 小时。减压蒸去溶剂,然后通过硅胶柱
5 色谱法纯化所得残留物(1%甲醇/氯仿),得到 29.3mg 化合物 14。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ (ppm): 7.24 (1H, ddd, 1.0, 11.2, 16.1 Hz), 6.72
(1H, d, 16.1 Hz), 6.43 (1H, s), 6.15 (1H, ddd, 1.7, 11.2, 11.2
Hz), 5.59 (1H, dd, 3.7, 11.2 Hz), 5.30 (1H, m), 4.20 (2H, m),
10 3.92 (1H, d, 16.1 Hz), 3.81 (1H, d, 16.1 Hz), 3.42 (2H, t, 6.6
Hz), 3.34 (1H, m), 3.01 (1H, m), 2.42 (1H, ddd, 3.4, 3.4, 14.4
Hz), 1.96 (2H, m), 1.59 (1H, ddd, 3.9, 8.8, 14.4 Hz), 1.52 (3H,
d, 6.4 Hz)

FAB-MS m/z : 463 $[\text{M}+\text{H}]^+$

15

实施例 15

化合物 15:

将化合物 1(60mg)和 4-二甲氨基吡啶(40mg)的二氯甲烷(2ml)溶液冷
20 却到 0 °C;向其中缓慢滴加入棕榈酰氯(0.1ml),并在 0 °C 搅拌所得的混
合物 30 分钟。减压蒸去溶剂,然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(4:1
正己烷/乙酸乙酯),得到 92mg 化合物 15。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.98 (1H, s), 7.03 (1H, s), 6.94 (1H,
25 dd, 11.2, 16.3 Hz), 6.14 (1H, t, 11.2 Hz), 6.04 (1H, d, 16.3
Hz), 5.74 (1H, t, 11.2 Hz), 5.40 (1H, m), 5.32 (1H, br t, 7.6
Hz), 5.05 (1H, dd, 7.6, 11.2 Hz), 4.29 (1H, d, 16.3 Hz), 3.95
(1H, d, 16.3 Hz), 2.63-2.52 (4H, m), 2.14 (1H, dd, 7.6, 15.4
Hz), 2.05 (1H, m), 1.80-1.72 (4H, m), 1.55 (3H, d, 6.3 Hz),
30 1.43-1.26 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.7 Hz)

FAB-MS m/z : 905 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 20

化合物 20:

按顺序将吡啶(5 滴)和乙酸酐(3 滴)滴加到化合物 19 的二氯甲烷(1ml)中,并在室温搅拌所得的混合物 16 小时。减压蒸除溶剂并
5 硅胶制备薄层色谱纯化所得的残留物(0.25mm × 10cm × 20cm, 5:1 烷/乙酸乙酯),得到 4.3mg 化合物 20。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.04 (1H, s), 6.97 (1H, dd, 10.7, 10.7 Hz), 6.05 (1H, t, 10.7 Hz), 6.04 (1H, d, 16.1 Hz), 5.89 (1H, t, 10.7 Hz), 5.38 (1H, m), 5.27 (1H, br t, 7.8 Hz), 5.09 (1H, t, 7.8, 10.7 Hz), 4.32 (1H, d, 16.4 Hz), 3.96 (1H, d, 16.4 Hz), 2.63-2.56 (4H, m), 2.21 (1H, dd, 7.8, 14.4 Hz), 2.02 (1H, t, 1.976 (3H, s), 1.81-1.71 (4H, m), 1.53 (3H, d, 6.4 Hz), 1.43-1.23 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.8 Hz).

15 FAB-MS m/z : 963, 965 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 21

化合物 21:

按顺序将 4-二甲氨基吡啶(300mg)和棕榈酰氯(1.0ml)加到化合物 3(250mg)的二氯甲烷溶液(10ml)中,并在室温搅拌所得的混合物 3
20 钟。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(3:1 正乙酸乙酯),得到 130mg 化合物 21。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.04 (1H, s), 6.97 (1H, dd, 11.0, 11.0 Hz), 6.04 (1H, t, 11.0 Hz), 6.00 (1H, d, 16.8 Hz), 5.89 (1H, t, 11.0 Hz), 5.38 (1H, m), 5.28 (1H, t, 7.6 Hz), 5.10 (1H, t, 7.6, 11.0 Hz), 4.31 (1H, d, 16.1 Hz), 3.95 (1H, d, 16.1 Hz), 2.61-2.53 (6H, m), 2.22 (1H, dd, 7.8, 14.4 Hz), 2.01 (1H, t, 1.81-1.71 (6H, m), 1.53 (3H, d, 6.4 Hz), 1.43-1.26 (72H, m), 0.88 (6H, t, 6.8 Hz)

实施例 18

化合物 18:

将化合物 17(25mg)的二氯甲烷溶液(4ml)冷却到 0℃,并向其中滴加入吡啶(5 滴)和乙酰氯(5 滴),在 0℃搅拌所得的混合物 30 分钟。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(5:1 正己烷/乙酸乙酯),得到 15mg 化合物 18。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.02 (1H, s), 6.93 (1H, dd, 11.2, 16.4 Hz), 6.12 (1H, t, 11.2 Hz), 6.03 (1H, d, 16.4 Hz), 5.73 (1H, t, 11.2 Hz), 5.38 (1H, m), 5.13 (1H, t, 8.0 Hz), 5.01 (1H, dd, 8.0, 11.2 Hz), 4.34 (1H, d, 16.4 Hz), 3.96 (1H, d, 16.4 Hz), 2.61-2.55 (4H, m), 2.20 (1H, m), 2.03 (1H, m), 1.95 (3H, s), 1.80-1.71 (4H, m), 1.53 (3H, d, 6.4 Hz), 1.43-1.26 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.6 Hz)
FAB-MS m/z : 919 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 19

化合物 19:

将浓氢溴酸(47%, 3 滴)缓慢滴加到化合物 a(见下文,通过参考实施例 1 制备)(106mg)的二噁烷溶液(5ml)中,并在室温搅拌所得的混合物 30 分钟。用氯仿稀释反应溶液并用水洗涤。用无水硫酸钠干燥,减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(3:1 正己烷/乙酸乙酯),得到 41mg 化合物 19。

$^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.03 (1H, s), 6.99 (1H, dd, 10.8, 16.1 Hz), 6.14 (1H, t, 10.8 Hz), 6.05 (1H, d, 16.1 Hz), 5.94 (1H, t, 10.8 Hz), 5.50 (1H, m), 5.10 (1H, dd, 5.9, 10.8 Hz), 4.29 (1H, d, 16.1 Hz), 4.13 (1H, br t, 5.9 Hz), 3.94 (1H, d, 16.1 Hz), 2.60-2.54 (4H, m), 2.13 (1H, dd, 6.9, 15.2 Hz), 2.00 (1H, m), 1.80-1.69 (4H, m), 1.50 (3H, d, 6.3 Hz), 1.44-1.26 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.6 Hz)
FAB-MS m/z : 921, 923 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 24

化合物 24:

将 O-(6-叠氮基己基)羟胺盐酸盐(575mg)加到根赤壳菌素(900mg)吡啶(5ml)溶液中,并在室温搅拌所得的混合物 78 小时。减压蒸去
5 然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1%甲醇/氯仿),得到 319mg 化合物 24。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.72
d, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.15 (1H, dd, 10.5, 11.2 Hz),
10 (1H, 3.4, 10.5 Hz), 5.30 (1H, m), 4.19-4.08 (2H, m), 3.91
d, 16.1 Hz), 3.81 (1H, d, 16.1 Hz), 3.34 (1H, m), 3.01 (1H,
2.42 (1H, m), 1.77-1.65 (2H, m), 1.62-1.56 (9H, m), 1.52
d, 6.6 Hz)

15 FAB-MS m/z: 505 [M+H]⁺

实施例 25

化合物 25:

将 O-[5-(叔丁氧基羰基)戊基]羟胺盐酸盐(400mg)加到根赤壳
20 (364mg)的吡啶(3ml)溶液中,并在室温搅拌所得的混合物 19 小时,
在 60 °C 搅拌 2 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所
留物(1%甲醇/氯仿),得到 316mg 化合物 25。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.3, 16.2 Hz), 6.71
25 dd, 16.2 Hz), 6.42 (1H, s), 6.15 (1H, dd, 10.3, 11.3 Hz),
(1H, dd, 3.4, 10.3 Hz), 5.30 (1H, m), 4.15-4.08 (2H, m),
(1H, d, 16.0 Hz), 3.81 (1H, d, 16.0 Hz), 3.33 (1H, m),
(1H, m), 2.42 (1H, m), 2.25-2.20 (2H, m), 1.75-1.34 (7H,
1.52 (3H, d, 6.5 Hz), 1.43 (9H, s)

实施例 22

化合物 22:

将偶氮二羧酸二乙酯(0.1ml)滴加到化合物 11(250mg), N-(6-羟基己基)邻苯二甲酰亚胺(244mg)和三苯膦(135mg)的四氢呋喃溶液(1.5ml)中, 并在室温搅拌所得的混合物 21 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱

5 色谱法纯化所得残留物(7.5:1 正己烷/乙酸乙酯), 得到 49mg 化合物 22。
¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 7.83 (2H, m), 7.71 (2H, m), 7.08 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.30 (1H, s), 6.27 (1H, d, 16.1 Hz), 6.18 (1H, dd, 10.5, 11.2 Hz), 5.48 (1H, dd, 3.2, 10.5 Hz), 5.24 (1H, m), 3.98 (1H, d, 16.1 Hz), 3.91 (2H, m), 3.69 (2H, m), 3.56 (1H, d, 16.1 Hz), 3.41 (1H, m), 2.96 (1H, m), 2.42 (1H, m), 1.83-1.37 (9H, m), 1.55 (3H, d, 6.5 Hz), 0.975 (9H, s), 0.973 (9H, s), 0.24 (3H, s), 0.22 (3H, s), 0.204 (3H, s), 0.197 (3H, s)

15

FAB-MS m/z: 837 [M+H]⁺

实施例 23

化合物 23:

将四正丁基氟化铵(1M 四氢呋喃溶液, 0.05ml)滴加到化合物 22(21.6mg)的四氢呋喃溶液(1ml)中, 并在室温搅拌所得的混合物 10 分钟。将反应溶液倾入到饱和氯化铵水溶液中并用乙酸乙酯提取 3 次。用无水硫酸钠干燥提取物, 减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1%甲醇/氯仿), 得到 16mg 化合物 23。

25 ¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.79-7.71 (4H, m), 7.03 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.77 (1H, d, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.04 (1H, dd, 10.5, 11.2 Hz), 5.39 (1H, dd, 3.2, 10.5 Hz), 5.26 (1H, m), 3.93 (2H, m), 3.84 (1H, d, 16.1 Hz), 3.73 (1H, d, 16.1 Hz), 3.62 (2H, m), 3.23 (1H, m), 2.91 (1H, m), 2.39 (1H, m), 1.80-1.33 (9H, m), 1.47 (3H, d, 6.8 Hz)

30

FAB-MS m/z: 609 [M+H]⁺

实施例 28

化合物 28:

将 6-氨基氧基己酸盐(270mg)加到根赤壳菌素(430mg)的吡啶液(2ml)中,并在室温搅拌所得的混合物 12 小时,然后在 60 °C 搅拌 5 时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(2%甲醇/4 得到 213mg 化合物 28。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.3, 16.2 Hz), 6.71 (1H, dd, 16.2 Hz), 6.42 (1H, s), 6.15 (1H, dd, 10.8, 11.3 Hz), 5.30 (1H, dd, 3.6, 10.8 Hz), 5.30 (1H, m), 4.16-4.08 (2H, m), 3.80 (1H, d, 16.1 Hz), 3.33 (1H, m), 3.33 (1H, m), 2.42 (1H, m), 2.30 (2H, m), 1.77-1.45 (7H, m), 1.45 (3H, d, 6.5 Hz)

FAB-MS m/z : 494 $[\text{M}+\text{H}]^+$

15

实施例 29

化合物 29:

将氨基氧基乙酸半盐酸盐(1.0g)加到根赤壳菌素(1.5g)的吡啶(5ml)中,并在室温搅拌所得的混合物 20 小时,然后在 60 °C 搅拌 20 时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(2%甲醇/4 得到 692mg 化合物 29。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ (ppm): 7.27 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.82 (1H, dd, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.17 (1H, dd, 10.5, 11.2 Hz), 5.31 (1H, dd, 3.4, 10.5 Hz), 5.31 (1H, m), 4.64 (2H, m), 3.91 (1H, d, 16.4 Hz), 3.82 (1H, d, 16.4 Hz), 3.34 (1H, m), 3.02 (1H, m), 2.42 (1H, m), 1.60 (1H, ddd, 4.2, 9.0, 14.4 Hz), 1.53 (3H, d, 6.6 Hz)

FAB-MS m/z : 438 $[\text{M}+\text{H}]^+$

25

实施例 26

化合物 26 :

将 O-[5-[[2-(三甲基甲硅烷基)乙基]氧基羰基]戊基]羟胺盐酸盐 (915mg) 加到根赤壳菌素(800mg)的吡啶溶液(2ml)中, 并在室温搅拌所得的混合物 22 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1%甲醇/氯仿), 得到 295mg 化合物 26。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.71 (1H, d, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.15 (1H, dd, 10.7, 11.2 Hz), 5.58 (1H, dd, 3.7, 10.7 Hz), 5.30 (1H, m), 4.19-4.13 (4H, m), 3.91 (1H, d, 16.1 Hz), 3.81 (1H, d, 16.1 Hz), 3.34 (1H, m), 3.01 (1H, m), 2.41 (1H, m), 2.33-2.29 (2H, m), 1.77-1.30 (7H, m), 1.52 (3H, d, 6.8 Hz), 1.00-0.95 (2H, m), 0.03 (9H, s)

FAB-MS m/z: 594 [M+H]⁺

实施例 27

化合物 27 :

将 O-[6-(烯丙氧基羰基氨基)己基]羟胺盐酸盐(116mg)加到根赤壳菌素(140mg)的吡啶(3ml)溶液中, 并在室温搅拌所得的混合物 79 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(1%甲醇/氯仿), 得到 156mg 化合物 27。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.2, 16.1 Hz), 6.71 (1H, d, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.15 (1H, t, 11.2 Hz), 5.91 (1H, m), 5.58 (1H, dd, 3.7, 11.2 Hz), 5.30 (1H, m), 5.27 (1H, dd, 1.7, 17.3 Hz), 5.16 (1H, br d, 10.5 Hz), 4.50 (2H, m), 4.18-4.06 (2H, m), 3.91 (1H, d, 16.1 Hz), 3.80 (1H, d, 16.1 Hz), 3.35 (1H, m), 3.12-3.07 (2H, m), 3.01 (1H, m), 2.41 (1H, m), 1.76-1.30 (9H, m), 1.52 (3H, d, 6.6 Hz)

FAB-MS m/z: 563 [M+H]⁺

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 7.23 (1H, dd, 11.3, 16.1 Hz), 6.72 (1H, d, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.15 (1H, dd, 10.6, 11.3 Hz), 5. (1H, dd, 3.5, 10.6 Hz), 5.30 (1H, m), 4.22 (2H, m), 3.91 (1H, d, 16.1 Hz), 3.80 (1H, d, 16.1 Hz), 3.67 (2H, m), 3.33 (1H, m), 3.01 (1H, m), 2.41 (1H, m), 1.92 (2H, m), 1.58 (1H, m), 1. (3H, d, 6.5 Hz)

FAB-MS m/z 438 [M+H]⁺

10

实施例 32

化合物 32:

将三乙胺(0.2ml)和 4-二甲氨基吡啶(78mg)加入化合物 9(100mg)的二氯甲烷溶液(6ml)中,在冰浴冷却下向混合物中滴加入棕榈酰氯(0.1g)的四氢呋喃溶液(2ml)。在 0℃ 搅拌 1 小时,然后在室温搅拌 2 小时,着减压蒸去溶剂。将所得的残留物溶于二乙醚中,用饱和氯化铵水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和氯化铵水溶液洗涤并通过硅胶柱色谱: 化(15g; 20%乙酸乙酯/己烷),得到 156mg 化合物 32。

¹H-NMR (CDCl₃) δ (ppm): 7.09 (1H, dd, 11.3, 16.2 Hz), 6.98 (1H, s), 6.73 (1H, d, 16.2 Hz), 6.09 (1H, dd, 10.7, 11.3 Hz), 5. (1H, dd, 3.1, 10.7 Hz), 5.34 (1H, m), 4.02 (1H, d, 16.3 Hz), 3.96 (3H, s), 3.73 (1H, d, 16.3 Hz), 3.43 (1H, m), 2.97 (1H, m), 2.57 (2H, m), 2.46 (2H, m), 2.41 (1H, m), 1.77-1.59 (4H, m), 1.56 (3H, d, 6.5 Hz), 1.46-1.26 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.5 Hz)

FAB-MS m/z 870 [M+H]⁺

实施例 33

化合物 33:

将三乙胺(0.2ml)和 4-二甲氨基吡啶(78mg)加入化合物 9(100mg)的二氯甲烷溶液(6ml)中,在冰浴冷却下向混合物中滴加入棕榈酰氯(0.1g)的四氢呋喃溶液(2ml)。在 0℃ 搅拌 1 小时,然后在室温搅拌 2 小时,着减压蒸去溶剂。将所得的残留物溶于二乙醚中,用饱和氯化铵水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和氯化铵水溶液洗涤并通过硅胶柱色谱: 化(15g; 20%乙酸乙酯/己烷),得到 156mg 化合物 32。

实施例 30

化合物 30:

按顺序将 N-羟基琥珀酰亚胺(2.5g)和 4-二甲基氨基吡啶(310mg)加到化合物 29(5.2g)的四氢呋喃溶液(100ml)中, 在室温搅拌混合物几分钟, 然后向其中滴加二环己基碳化二亚胺(4.5g)的四氢呋喃溶液(30ml)。室温搅拌 2 小时后, 通过过滤除去这样沉淀得到的脲衍生物, 减压浓缩所得的滤液得到琥珀酰亚胺酯粗结晶。将所得的琥珀酰亚胺酯溶于 100ml 二氯甲烷中并按顺序与三乙胺(4.5ml)和二甲胺盐酸盐(2.0g)混合, 然后于室温搅拌所得混合物。搅拌 12 小时后, 减压除去反应溶剂, 并将所得的残留物溶于乙酸乙酯(500ml)中, 用 1N 盐酸水溶液和饱和氯化钠水溶液洗涤, 用无水硫酸钠干燥。通过硅胶柱色谱法纯化(100g, 2% 甲醇/氯仿)得到 2g 化合物 30。

$^1\text{H-NMR}$ (CD_3OD) δ (ppm): 7.27 (1H, dd, 11.3, 16.1 Hz), 6.81 (1H, d, 16.1 Hz), 6.42 (1H, s), 6.17 (1H, dd, 10.5, 11.3 Hz), 5.61 (1H, dd, 3.5, 10.5 Hz), 5.30 (1H, m), 3.91 (1H, d, 16.1 Hz), 3.82 (1H, d, 16.1 Hz), 3.34 (1H, m), 3.08 (3H, s), 3.02 (1H, dd, 2.2, 3.7, 8.9 Hz), 2.95 (3H, s), 2.42 (1H, ddd, 3.6, 3.7, 14.5 Hz), 1.60 (1H, ddd, 4.1, 8.9, 14.5 Hz), 1.52 (3H, d, 6.6 Hz)

FAB-MS m/z 465 $[\text{M}+\text{H}]^+$

实施例 31

化合物 31:

将根赤壳菌素(364mg)和 O-(3-羟基丙基)羟胺盐酸盐(137mg)溶于 3ml 吡啶中并在室温搅拌 64 小时。减压蒸去溶剂然后通过硅胶柱色谱法纯化所得残留物(15g, 1.5% 甲醇/氯仿), 得到 186mg 化合物 31。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 8.10 (1H, s), 6.87 (1H, d, 16.0 Hz), 6.75 (1H, dd, 11.1, 16.0 Hz), 6.49 (1H, s), 6.19 (1H, t, 11 Hz), 5.58 (1H, t, 11.1 Hz), 5.45 (1H, m), 5.32 (1H, m), 5. (1H, dd, 4.5, 11.1 Hz) 3.91 (3H, s), 3.85 (1H, d, 15.9 Hz), 3.75 (1H, d, 15.9 Hz), 2.03 (1H, m), 1.95 (1H, dd, 4.8, 14 Hz), 1.51 (3H, d, 6.4 Hz)

FAB-MS m/z 458 [M+H]⁺

10

实施例 36

化合物 36:

用化合物 30(410mg), 按实施例 33 的方法可以得到 188mg 化合物 36。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 6.78 (1H, d, 16.0 Hz), 6.70 (1H, 10.8, 16.0 Hz), 6.42 (1H, s), 6.10 (1H, dd, 10.8, 11.4 Hz) 5 (1H, t, 11.4 Hz), 5.33 (1H, m), 4.98 (1H, dd, 3.1, 11.4 Hz), 4.87-4.79 (2H, m), 4.61 (1H, d, 15.1 Hz), 3.84 (1H, m), 3 (1H, d, 15.1 Hz), 3.07 (3H, s), 2.95 (3H, s), 2.09 (1H, 1.93 (1H, m), 1.45 (3H, d, 6.0 Hz)

20

FAB-MS m/z 501 [M+H]⁺

实施例 37

片剂:

将化合物 4(50g), 乳糖(40g), 玉米淀粉(68g)和羧甲基纤维素钾(混合, 并通过加入 10%羟丙基纤维素溶液捏和所得混合物。将捏和加到模压制粒机上制备颗粒, 这些颗粒可随后与硬脂酸镁混合得到(whole)颗粒, 用作制备片剂的颗粒。以适用的方式将其置于制片机可以得到每片含有 50mg 化合物 4 的片剂(170mg)。

实施例 38

20

附录

粒可随后与硬脂酸镁混合并采用胶囊包装机封装在硬胶囊中,得到每个含有 30mg 化合物 4 的胶囊(170mg)。

实施例 39

软胶囊:

5 将化合物 4(10g)溶于 100g 大豆油中,并以适用的方式将所得的溶液注射到胶囊中,以制备每个含有 10mg 化合物 4 的胶囊(110mg)。

参考实施例 1

14,16-二棕榈酰基根赤壳菌素(化合物 a):

10 将根赤壳菌素(5g)、吡啶(3.3ml)和 4-二甲氨基吡啶(1.2g)的甲苯溶液(150ml)冷却到 0℃,向溶液中缓慢滴加入棕榈酰氯(12.5ml),在 0℃ 搅拌所得的混合物 30 分钟。用氯仿(400ml)稀释反应溶液并用稀盐酸水溶液、饱和碳酸氢钠水溶液和饱和盐水洗涤。用无水硫酸钠干燥,然后通过硅胶柱色谱纯化(4:1 正己烷/乙酸乙酯)得到 12g 化合物 a。

15 $^1\text{H-NMR}$ (CDCl_3) δ (ppm): 7.52 (1H, dd, 10.3, 16.1 Hz), 7.02 (1H, s), 6.15 (1H, t, 10.3 Hz), 6.06 (1H, d, 16.1 Hz), 5.79 (1H, dd, 3.9, 10.3 Hz), 5.40 (1H, m), 4.03 (1H, d, 16.4 Hz), 3.92 (1H, d, 16.4 Hz), 3.52 (1H, m), 3.02 (1H, ddd, 2.2, 2.2, 7.8 Hz),
20 2.58 (2H, t, 7.6 Hz), 2.49 (2H, ddd, 1.7, 7.3, 7.3 Hz), 2.40 (1H, 3.4, 3.4, 14.7 Hz), 1.78-1.60 (5H, m), 1.54 (3H, d, 6.6 Hz), 1.49-1.23 (48H, m), 0.88 (6H, t, 6.8 Hz).

FAB-MS m/z : 841 $[\text{M}+\text{H}]^+$

25

工业实用性

本发明根赤壳菌素衍生物可在药剂中使用,该药剂具有抗肿瘤、抗菌或免疫抑制作用。

× 10cm × 20cm; 氯仿-甲醇-乙酸, 194:5:1) 得到 12mg 化合物 33。

¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 6.66 (2H, m), 6.42 (1H, s), 6.10 (1H, m), 5.80 (1H, t, 10.3 Hz), 5.32 (1H, m), 4.97 (1H, dd, 3.4, 10.3 Hz), 4.59 (1H, d, 15.4 Hz), 3.89 (3H, s), 3.84 (1H, m), 3.67 (1H, d, 15.4 Hz), 2.09 (1H, m), 1.94 (1H, m), 1.45 (3H, d, 6.1 Hz)

FAB-MS m/z 430 [M+H]⁺

10

实施例 34

化合物 34:

用化合物 9(22mg), 按实施例 3 的方法可以得到 8mg 化合物 34。

15 ¹H-NMR (CD₃OD) δ (ppm): 6.63 (2H, m), 6.42 (1H, s), 5.99 (1H, m), 5.93 (1H, t, 10.3 Hz), 5.31 (1H, m), 5.10 (1H, dd, 3.6, 10.3 Hz), 4.65 (1H, d, 15.7 Hz), 3.68 (1H, m), 3.67 (1H, d, 15.7 Hz), 2.03 (1H, m), 1.97 (1H, ddd, 3.6, 9.8, 14.4 Hz), 1.44 (3H, d, 6.0 Hz)

20

FAB-MS m/z 474, 476 [M+H]⁺

实施例 35

化合物 35:

25 在冰浴冷却下, 将 0.16ml 草酰氯滴加到化合物 9(362mg)的二甲基甲酰胺溶液(7ml)中, 在冰浴冷却下搅拌 30 分钟, 然后在室温搅拌 15 小时。用 50ml 乙酸乙酯稀释反应溶液, 用水洗涤两次并用无水硫酸钠干燥。进行硅胶柱色谱法纯化(10g; 2% 甲醇/氯仿)后得到 94mg 化合物 35。

30